《动物实验标准化替代方法实施指南（征求意见稿）》编制说明

《动物实验标准化替代方法实施指南》
标准编制组
二〇二一年九月

项目名称：动物实验标准化替代方法实施指南

项目统一编号：SHSOT-2020-B06

承担单位：上海交通大学医学院，广州市华代生物有限公司，丝芙兰中国有限公司，上海市疾病预防控制中心，欧莱雅研发创新中心，，等。

编制组主要成员：程树军，杜娟，，等

本文件首批执行单位：上海交通大学医学院，等。

目 录

1 工作简况.....4
1.1 项目背景.....4
1.2 任务来源.....4
1.3 主要工作过程.....5
1.3.1 成立标准编制组.....5
1.3.2 相关标准资料研究.....5
1.3.3 召开研讨会，制订方法验证程序.....5
1.3.4 组织方法验证工作.....5
2 标准编制原则和制标依据.....4
2.1 解决动物实验标准化替代方仿制和改进中的问题.....5
2.2 仿制/改进方法与标准化方法的一致性原则.....5
2.3 标准仿制和改进方法的实施应满足化妆品安全评价的需要.....5
2.4 确定标准主要内容的依据.....5
3 标准结构.....5
3.1 正文部分.....6
3.2 附录.....9
3.2.1 资料性附录 A 皮肤模型刺激性测试的实施指南.....9
3.2.2 资料性附录 B 基于转染报告基因的角质细胞氧化反应活化的皮肤致敏方法的实施指南.....9
4 标准验证.....9
4.1 验证组织.....9
4.2 验证组织.....9
4.3 参考物质选择.....10
4.4 验证结果分析.....10
4.4.1 阴性对照.....10
4.4.2 皮肤刺激性分类结果.....10
4.4.3 验证结论.....11
5 预期经济效果.....11
5.1 推动化妆品行业替代方法的实施.....11
5.2 推动替代方法的优化.....11
5.3 为替代方法创新研究打下基础.....11
6. 采标程度，国内外同类标准水平对比情况.....11
7. 重大分歧意见的自理和其他需要说明的事项.....12

《动物实验标准化替代方法实施指南（征求意见稿）》

编制说明

1 工作简况

1.1 项目背景

随着转化毒理学及毒性测试替代技术的发展，在 TT21C 等理念的影响下，经合组织为首的化学品毒性测试新试验方法（new approaches methods）研发速度显著加快，毒性测试指南体系不断增加新的毒性测试终点的方法。我国有关法规，如化妆品安全技术规范中的毒理学测试体系也在不断与国际指南协同一致。但仍处于“跟跑”阶段，而且专家共识仍未形成，制约了行业普及。

另一方面，随着日用化学工业的发展和消费市场规模的扩大，大量日化工业产品，如化妆品、洗护服务器、家居用品和消毒产品等毒性测试需要大量的安全性测试，传统的动物实验周期长环境要求高无法满足日常测试，发展消费品的国际市场也需要采用与国际接轨的非动物方法。

近年来，毒性测试替代方法逐渐在国内外多个行业中推广开来，对于现有替代方法的仿制或者优化，有助于在满足法规基本要求的前提下鼓励新方法有所创新.这就需要建立一套规范性文件，明确规定这类方法的开发和验证要求，从而实验动物试验替代方法从“跟跑”、到“并跑”，再到“领跑”，做到在遵循既定的原则下，沿着正确的道路，不走弯路，快速发展。

1.2 任务来源

2020 年 12 月，上海市毒理学会标委会审议通过了第二批团体标准立项申请，“动物实验替代方法实施指南”通过立项，立项编号：SHSOT-2020-B07，标准制订正式启动。标准完成后将成为国内第一个关于替代方法实施和应用指南的标准，为毒性测试替代方法的普及、推广、创新等实施应用问题提供指导。标准由上海交通大学医学院公共卫生学院主持，广州华代生物、上海市疾病预防控制中心、贝泰欧、欧诗漫、上海斯安肤诺和欧莱雅等公司参与。

我国化学品毒性测试非动物方法的标准化只有不到 20 年的时间，最早于 2006 年开始由出入境检验检疫机构编制和发布了我国第一批化妆品和化学品替代方法行业标准。除了在进出口商品检验检测中使用外，还在化妆品行业推广。2016 年《化妆品安全技术规范》接受了 3T3 中性红摄取光毒性试验方法。之后，皮肤刺激的大鼠经皮电阻试验、皮肤致敏的直接多肽结合试验、眼刺激的短期暴露试验等多个方法被接受。这些标准实施过程中面临仿制和优化的问题，需要建立配套的指南给予规范。

1.3 主要工作过程

1.3.1 成立标准编制组

2020 年 8 月，成立了由上海交通大学医学院公共卫生学院程树军任组长，广州华代生物任副组长，上海市疾病预防控制中心、贝泰欧、欧诗漫、上海斯安肤诺和欧莱雅等公司代表参与的标准编制小组。制订项目实施计划，启动标准验证研究。

1.3.2 相关标准资料研究

查询国际标准文件，以 OECD 与化学品健康毒理学相关的准则和导则文件为主，以 ICCVAM、EURL-ECVAM、UN GHS 等文件。分析范围包括 IATA、GIVIMP、TG 系列、DG 系列、AOP 系列、工作报告等。国内标准以 GB、SN 等为主。

1.3.3 召开研讨会，制订方法验证程序

2020 年 10 月，邀请行业内专家召开专题讨论会，就标准编制的重点、难点和关键问题进行充分研讨，确定标准编制和验证方案，收集和研究文献，标准编制组分工。2021 年 10 月～12 月，编制组开展了标准主体结构、附录等各环节进行探讨，开始编制标准文本草案。

1.3.4 组织方法验证工作

组织起草小组对主体结构进行验证，选择附录 A“基于皮肤模型的皮肤刺激性的替代方法”作为标准实施的案例进行验证。

2 标准编制原则和制标依据

2.1 解决动物实验标准化替代方仿制和改进中的问题

随着体外方法的推广和全球化应用，要求使用这些方法的实验室应具备一定能力的同时，其体外方法的使用者也试图在标准方法之上优化和更新建立仿制方法。因此，有必要对定义性方法建立性能标准，以指导体外方法的科学有效运行（也称为me too），以及在原有试验标准的基础上实现机制上和功能性的相似性的创新（也称为me better）。OECD给出体外方法性能标准三个要素，分别是方法的基本组成、参考物质列表、精确性和可靠运行的值。近年来OECD发布了多项体外方法的性能标文件。这些指南解决标准实施中的问题，对于指导和推动替代方法的应用具有重要的指导意义。也为本标准的起草提供了参考。

2.2 仿制/改进方法与标准化方法的一致性原则

在传统动物实验替代方法国际协调一致的前提下，在TT21C倡导毒性测试体系和标准变更迭代的背景下。对目前现有标准化替代方法建立实施指南，对于遵循替代技术发展的轨迹，创建行业体外科学创新发展的道路非常重要。为了解决替代方法在实践中创新的问题，OECD 发布了一系列单一标准化方法的实施指南文件，涉及目前几乎所有的指南方法，除了一般和局部毒性外，还包括内分泌干扰物和靶器官毒性的方法。对方法中共性的要求，如仿制方法应满足的要求，标准方法改进之后的验证和接受问题，数据的质量控制，同时，还要结合我国目前替代方法的行业应用现状。另外，针对目前替代领域高通量和高内涵等数据密集型方法的开发，需要对实验材料、实验系统进行进一步的约定，并对验证模式做出调整。

2.3 标准仿制和改进方法的实施应满足化妆品安全评价的需要

2016 年《化妆品安全技术规范》接受了 3T3 中性红摄取光毒性试验方法。之后，皮肤刺激的大鼠经皮电阻试验、皮肤致敏的直接多肽结合试验、眼刺激的短期暴露试验等多个方法被接受。这些替代方法的标准在实施的过程中存在以下问题：

1）、缺少规划，没有形成整体评测系统，对每个毒性终点的评价方法缺少整体梳理；

2）、单一替代方法数量少且比较分散，替代方法只见树林，不见森林；

3）、替代方法普遍缺少应用场景及数据积累，缺少实际应用的规范性指导文件；

4）、行业数据还比较少，特殊样品的测试，如混合物、产品和特殊样品的公开数据；

5）、缺少组合方案，缺少 IATA 策略的尝试；

6）、替代方法的实验结果与风险评估脱节；

7）、对现有方法的类似方法的仿制和优化缺少指南；

8）、对新技术的应用于现有方法的验证和开发新方法缺少指南；

2.4 确定标准主要内容的依据

1）依据经合组织化学品健康毒性相关的替代方法的实施指南

目前OECD发布了10多项标准化替代方法的实施指南，涉及局部毒性和内分泌干扰毒性，而且实施指南仍在动态更新中。对这些文献的理解是建立本规范的基础。例如：

No. 220，体外重建表皮模型用于皮肤刺激性试验的相似或优化的体外方法（TG 439）的实施指南，

No. 219，体外重建表皮模型用于皮肤腐蚀性试验的相似或优化的体外方法(TG 431)的实施指南，

No. 218，体外大鼠皮肤电阻试验(TG 430)标准的实施指南，

No. 216，体外重建角膜类似模型用于眼危害识别的相似或优化的体外方法（TG 494）的实施指南，

No. 213，体外皮肤致敏的ARE-NRF2 萤光素酶试验的相似或优化方法的(TG442D)实施指南

No. 174，稳定转染雌激素受体拮抗剂的第二版实施指南

No.173， Performance Standards for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Agonists for TG 455

No. 222，人类重组雌激素受体结合试验（TG456）标准的实施指南

2）依据良好体外方法规范

依据OECD2018年发布的《良好体外方法规范》（GIVIMP）第8部分替代方法实施要求，2005年ECVAM发布的良好细胞 培养规范(GCCP)关于细胞培养和质控的要求，2005年OECD导则文件34号关于替代方法验证的文件，以及我国食药监局发布的《化妆品安全技术规范》关于替代方法的要求。

3 标准结构

3.1 正文部分

第一部分：标准适用范围

本标准规定了体外毒理学方法实施评价的一般性原则、程序、内容、方法和技术要求；标准适用于毒性测试动物实验的标准化替代方法的开发、验证和实施；适用于化妆品、化学品及相关产品的毒性测试的替代方法；标准附录规定的案例适用于化妆品检验检测机构作参

考。

第三部分：术语和定义部分

指南列举了与替代方法实施相关的术语 38 个，包括三类：

一类是替代方法的常用术语，共 11 个，如：有害结局通路、细胞毒性、衍生数据、数据（原始数据）、数据的完整性、数据生命周期、测试和评估的定义方法、整合测试和评估的方法、整合测试策略、阳性对照、预测模型。

数据全生命周期，指数据（包括原始数据）生命周期的所有阶段，从开始生成和记录到处理（包括转换或转移）、使用、数据保留、存档/检索和销毁（如果适用）。

普遍接受的最佳方法或技术，可以作为一个基准；与其他方法取得的结果相比，在不同实验室中始终显示出优异的结果。还用于描述开发和遵循被多个组织认同的标准化的实施方式及过程。最佳规范只是一个简要说明，可能会根据正在进行的科学进步而发生变化。

第二类是与标准质量控制和验证相关的术语共 12 个：如基准剂量（BenchMark Dose BMD）或基准浓度（Concentration BMC） 、实验室间评估、生物学通路、可接受标准 、 准确性、

相关性、可靠性、敏感性、特异性、标准操作规程、溶剂对照、实验室内评估。

稳健性 Robustness：当试验在不同实验室进行，或在试验方法常规使用可能存在的条件宽泛的情况下，测试结果对偏离特定测试条件的不敏感性。如果测试不稳健，则很难在实验室内部和实验室之间以可重复的方式使用。

验证集 Validation set 一组选定的化学品，用于根据参考体外方法结果的终点值的性能评估体外方法的预测能力。验证集的测试是体外方法验证的主要部分。

Z 因子 Z-factor 溶剂对照和测试项目信号之间分离程度，其考虑了体外方法的动态范围以及与信号和对照测量相关的数据变化。

第三类是与标准实施相关的术语 15 个：最佳规范、变异系数、检出限、定量限、方法终点、Me-too、多成分物质 、基于实施的测试指南、实施标准，重要的术语如：

最佳规范：普遍接受的最佳方法或技术，可以作为一个基准；与其他方法取得的结果相比，在不同实验室中始终显示出优异的结果。还用于描述开发和遵循被多个组织认同的标准化的实施方式及过程。最佳规范只是一个简要说明，可能会根据正在进行的科学进步而发生变化。

Me too 是仿制试验方法的的口语表达，它在结构和功能上与经过验证和接受的参考测试方法相似。这种测试方法将成为追加验证的候选方法。

熟练化学物（物质）Proficiency chemicals (substances) 标准替代方法测试指南中推荐的一组化学物，实验室在常规使用这些测试方法之前，就使用这些化学物进行测试用来证明其技术熟练程度。这些化学品可以是与 OECD 测试指南相关的实施指南中包含的参考化学品的一个子集，也可以是 OECD 测试指南中列入的在验证研究中使用的化学品。熟练测试化学品的选择标准尽可能包括以下几点：1) 代表要预测的反应范围，2) 具有可用的高质量参考数据；3) 涵盖方法的动态响应范围；4) 在验证研究过程中被测试方法正确地预测；5) 涵盖体外方法适用范围内的尽可能高的广泛性和代表性，包括物理状态、化学类别、有机官能团和结构；6) 可商业获得，7) 获得和处置的途径与成本不受禁止或可接受。

第四部分：忆验证标准方法和仿制方法

1、本部分举例了 DA 方法和仿制方法的区别，定义性方法(DA)就是经验证的替代方法。DA 方法的组合能够克服单个方法、独立方法的一些局限性，增加对毒性整体预测的确定性。

2、仿制方法的开发目的是在 DA 方法的基础上建立类似的方法或改进建立新的方法，这些方法需要进行内部验证，以确定其与现有方法的等效性。

3、仿制方法性能及实施指南有三个要素，测试方法的基本组件、参考化学物质的最小

清单和方法准确性、可靠性的值。

4、建立替代方法实施指南的作用：用于追加验证和用于方法改进。

5、方法改进验证的实施：主要关注改进后的方法与原方法的差异：方法性能的影响，方法中其他组件的影响，决定新方法的验证方式和程序，并评估可靠性和相关性。其他包括3R 的影响、改进的可行性、成本效益和时间效益以及实验室能力等因素。

6、方法开发和实验室内验证的关系

第五部分：替代方法可接受标准

1、一致性

2、可接受标准和依据

3、数据要求

4、阳性对照：单一剂量方法的阳性对照，以 BCOP 为例。多剂量/浓度的方法的阳性对照，以细胞毒性为例。

5、阴性对照：用于量化数据的变异性，例如：基于体外重建组织模型的方法；或者确定最低细胞活性水平，例如皮肤致敏的树突细胞活化试验中对细胞活性的要求。

6、临界值或关键参数：设置可接受标准的临界值或关键参数。

第六部分：试验设计

指南的这部分规定了以下个方面的内容。

首先是统计学的问题，规定了统计效力分析，使用统计效力分析来计算理想的重复数，以测定预先设定的置信水平的不同处理之间的确切的差异。非统计学因素的干扰，指出除了统计方面的要求外，还考虑实际情况的影响，如成本和重复试验的可行性。

其次，对于影响试验结果的铺板设计详细作出规定，包括细胞铺板的质量，包括孔分布、细胞 密度、化学样品考虑，对照等，对于体外实验非常重要。对于高通量筛查的高密度培养孔，还关注了漂移、随机化等干扰因素。指南规定了控制培养板漂移的要求是左右两侧溶剂对照(SC)的差异不超过 15%。对于挥发性实验的质控，要求实验室配备用于防止挥发的封口膜。

第三，是体外实验的数据分析，对于数据收集、数据分析方法和影响因素作出规定，休外方法的数据分析包括数据转换，例如数学模型公式的规范化；数据拟合，用于对存在浓度效应关系的反应进行拟合，以获得统计参数，其中涉及到多种替代的情形，如，当拟合剂量-反应曲线时，应将所用方程的类型(例如，四参数 logistic 曲线)与应用的任何约束(例如，归一化数据的最高约束为 100%)、限制(例如，单调性假设)和权重(例如，逆数据不确定性)一并记录下来。还应了解方法与参数之间的数学逻辑关系，例如半数有效浓度（EC50）、最高参考阳性对照浓度（RPCMax)、最高阳性对照浓度（PCMax）、半数阳性对照浓度(PC50)、10%阳性对照浓度（PC10）和相关的拟合优度参数(r 平方,平方和等)，这些参数可用于证明模型的选择过程。

第四是异常数字的检查的剔除。国内的体外实验室通常忽略数据检查的重要性，对于异常值的核查和剔除缺少指导，本节提出了具体要求。异常值检查方法可用 Grubbs”测试(单离群值)或者使用箱线图等可视化工具(例如,马氏距离)。排除异常值时，应当考虑如何判断数据是否应当被视为异常值，是否存在未知原因所致的异常的情况。

第五是对于剂量反应曲线的核验。分别就单调曲线和 U 形曲线出现的背景、原因和检查要求作出了规定，并以雌激素受体结合实验为例进行了说明。

第七部分：验证

对于仿制或估性价比方法的验证原则上是一样的，但采取的方式和程序可以根据具体情况分析。这部分除了规定验证的基本原则、计划、组织等要求之外，还列举了可选择的验证方式。包括全面验证、部分验证、交叉验证。对于不同体外方法选择验证参数的区别，例如：

定量方法至少应在适用的情况下解决方法的准确性、重现性、线性、检测限和测量范围，而对于定性方法，特异性和灵敏度是关键参数。另外，还规定了验证中获得的几个关键参数的意义和用途。如检测限与临界值，信噪比、线性和动态范围、线性拟合、准确度和精密度、敏感性和特异性、重现性等。

第八部分：效能化学物质

实验室在常规运行已验证替代方法之前，应对于实施原有已验证的方法进行参考物质的测试，从而建立仿制方法开发的基础。这一部分规定参考物质选择的标准和使用要求。

第九部分，新一代替代方法的验证规范

对于目前在体外方法研究领域大量采用高通量和高内涵技术的趋势，对于这类数据驱动的方法，本部分规定了数据密集型体我方法的验证方式。包括标准化基础、图像分析方法的验证、高通量方法的验证等。

3.2 附录

本标准附录均为资料性附录。分为两个，代表了目前替代方法比较普及的两个方面。资料性附录 A 皮肤模型刺激性测试的实施指南，资料性附录 B 皮肤致敏 KeratinoSens 试验的实施指南。

3.2.1 资料性附录 A 皮肤模型刺激性测试的实施指南

分为 20 个部分，分别介绍了基于 439 的仿制方法的实施规范。A1、要求；A2、测试方法的基本组件；A3、可改变的值或实验步骤；A4、重建表皮的特征要求；A5、组织生存力；A6、屏障功能；A7、形态学；A8、重现性；A9、质量控制、A10、A11、A12、MTT 干扰；A13、对照； A14、结果解释和预测模型；A15、最小参考化学物质清单； A16、可靠性和预测能力的确认；A17、实验室内可重复性； A18、实验室之间的可重复性； A19、预测能力； A20、 验证可接受标准

3.2.2 资料性附录 B 基于转染报告基因的角质细胞氧化反应活化的皮肤致敏方法的实施指南

附录 B 共个部分，分别规定了基于 OECD442E 仿制方法的实施规范。B1、前言和基本要求； B2、测试方法的基本组件；B3、参考物质清单；B4、定义的可靠性和准确性值；5、实验室内可重复性；B6 实验室间结果可重复性；B7、预测性。

4. 标准验证

以标准化的基于皮肤模型的皮肤刺激性测试，即附录 A 作为标准化实施指南进行验证，选择 5 家实验室参与验证。

4.1 验证组织

参与验证测试单位：广州华代 （L1）、上海贝泰妮 （L2）、上海化工研究院（L3）、沈阳化工研究院（L4）、片仔癀（L5）；

技术支持单位：欧莱雅中国研发和创新中心

皮肤模型生产单位：上海斯安肤诺生物科技有限公司

验证核查人员：CNAS 认可评审员 2 人

4.2 验证组织

2020 年 12 月-2021 年 5 月，进行实验测试部分

2021 年 3-5 月，数据分析

2021 年 6-8 月，完成团标的起草、修改、定稿

4.3 参考物质选择

439 方法在参与验证实验室已实施多年，最久的华代公司已仍超过 9 年，其他实验室也是大于 3 年的使用历史。针对本项目，选择了简化版验证。项目基于 OECD TG 431 和 439，选取 4 种的参考化学物，进行编码分发至参与实验测试单位。对每个选取参考化学物分别在两个实验室进行测试。每个参与测试实验的实验室需测试 1-4 个化学物 （2 轮，皮肤刺激性 和/或 皮肤腐蚀性）。每个参与实验室的测试结果和 UN GHS 分类进行比对分析，以确定团体标准的建立。

类别	CAS#	化学品名	物理性质	皮刺测试参与实验室及编码	皮腐测试参与实验室及编码
NC	86-87-3	1-萘乙酸	固体	L1（A11） L2（B25）	L1（A11） L2（B25）
Cat 2	111-25-1	溴己烷	液体	L1（A32） L2（B48）	L1（A32） L4（E33）
Cat 1B/1C	563-96-2	乙醛酸水合物	固体	L1（A52） L2（B66）	L1（A52） L5（D63）
Cat 1A	13319-75-0	二水合三氟化硼	液体	L1（A79） L2（B87）	L1（A79） L3（D81）

4.4 验证结果分析

4.4.1 阴性对照

皮肤刺激性测试（OECD TG439）对照组数据分如下图：

G439 标准所有批次实验的阴性对照组吸光光度值（OD）均符合 OECD TG439 标准，所有批次实验的阳性对照组细胞活性值（via%）均符合 OECD TG439 标准。

❖ 皮肤刺激性测试（OECD TG439）对照组数据分析

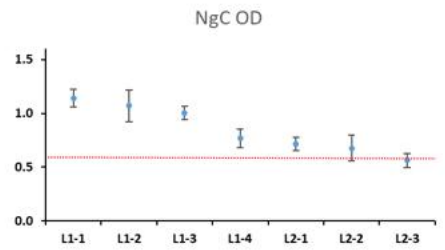

图1a. 不同批次实验阴性对照组吸光光度值（OD）

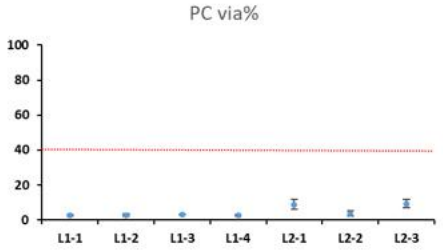

图1b. 不同批次实验阳性对照组细胞活性值(via%)

4.4.2 皮肤刺激性分类结果

CAS#	第一组第一轮			第一组第二轮			第二组第一轮			第二组第二轮		
	via%	Prediction	Lab	via%	Prediction	Lab	via%	Prediction	Lab	via%	Prediction	Lab
86-87-3	71.6	NC	L1	111.1	NC	L1	59.8	NC	L2	57.6	NC	L2
111-25-1	18.2	Cat 2	L1	11.1	Cat 2	L1	22.9	Cat 2	L2	44.4	Cat 2	L2
563-96-2	24.4	Cat 2	L1	15.3	Cat 2	L1	23.5	Cat 2	L2	16.2	Cat 2	L2
79-08-3	1.3	Cat2	L1	2.1	Cat2	L1	4.7	Cat2	L2	3.6	Cat2	L2

同一实验室内的可重复性为 100%，不同实验室间的可重复性为 100%

4.4.3 验证结论

本次验证选择 439 作为标准化动物实验替代方法实施验证的方法，结果表明采用市场上可以选购的符合标准要求的 EpiSkin™人重建表皮模型，在 5 家不同实验室间重复性良好。在满足运行实施的基础上，这些实验室对仿制方法的开发有了进一步的认识。

5. 预期经济效果

5.1 推动化妆品行业替代方法的实施

动物实验替代方法起源于 1959 年罗素和伯齐倡导的“仁慈试验技术原理”，经过 60 年的发展，在国际上科学界、监管机构和验证机构的共同推动下，体外方法已广泛应用于监管科学、常规检测和科研服务。2009 年之后，从欧盟开始，世界上超过 50 个国家的化妆品法规禁止使用动物实验，转而使用替代方法。而我国的替代方法的使用不超过 20 年的历史，许多标准化替代方法没有被系统引进，更谈不上对其开发和验证过程的熟悉，迫切需要对于这些方法的使用提供指导文件。

5.2 推动替代方法的优化

目前，被我国行业主管机构接受，以及行业使用的替代方法还不多，但同样存在着标准化方法重现实施，以及后续仿制方法开发和优化的问题。这也是替代方法被广泛使用的背景下如何证明其实施效果和水平的问题。本指南的制定有助于推动替代方法的优化过程中的规范化验证。

5.3 为替代方法创新研究打下基础

2016 年《化妆品安全技术规范》接受了 3T3 中性红摄取光毒性试验方法。之后，皮肤刺激的大鼠经皮电阻试验、皮肤致敏的直接多肽结合试验、眼刺激的短期暴露试验等多个方法被接受。这些替代方法的标准在实施的过程中存在的突出问题是：对现有方法的类似方法的仿制和优化缺少指南；新技术的应用于现有方法的验证和开发新方法缺少指南；本指南有画于这两个问题的解决。

6. 采标程度，国内外同类标准水平对比情况

本指南主要依据近几年来，OECD 为代表的国际组织为推动标准化替代方法一致性实施、仿制和优化改进所需要解决的验证问题而发而的系列指南文件。特别是与化学品急性毒性和局部毒性相关的标准化指南文件，皮肤刺激性、皮肤腐蚀性、眼刺激性、光毒性和皮肤致敏性等，即 439,437,495,496,432,431,442C,442E 等。参考了其中与一致性使用、仿制方法开和、改进方法开发相关的共性条款和原则，编制已成为指南的正文，。以具体的三个方法作为参考性附录列在正文之后。这三个附件的参考依据是如 No. 219，No. 218，No. 216，No. 220。考虑到目前国内替代方法的使用情况，复杂的健康毒理终点，如内分泌干扰等没有作为附件参考，如 No. 222，No. 174，No.173。

目前国内尚无类似指南标准，本标准发布将填补这一领域的空白。

7. 重大分歧意见的自理和其他需要说明的事项

2020 年申请标准立项时得到学会标准化专家委员会的投票一致同意。标准编制过程和验证过程中得到参与实验验证单位和参与标准编制单位的积极响应。主要问题如下：

动物实验标准化方法实施指南是作为系列标准更合适，还是考虑只作为单一标准？目前对于标准化替代方法的实施，涉及验证、方法确认、实验室能力认可，质量管理，仿制方法的一致性评价，优化方法的界定等一系列问题。实施指南作为单一指南，还是形成指南系列存在不同意见。从长远发展来看，制订指南系列比较符合发展的需要。例如将本标准的正文作为总则，而将本标准的附录按照毒理学终点进行分类，作为子标准编制。